

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا ﴿١١٤﴾

و بگو: «پروردگارا مرا دانش افزای»

سوره طه ۱۱۴



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی قزوین

**اثرات مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه واریته بولاردی
بر بیان ژن‌های حدت *sodA*، *ompA* و بیان ژن‌های *IL8*،
NF-kB در رده سلولی *Caco-2* آلوده شده به باکتری پاتوژن
غذازاد انتروباکتر ساکازاکی**

استاد مشاور:
دکتر پیمان قجریگی
دکتر امیر پیمانی

دانشجو:
سمانه اله یاری
شهریور - ۹۹

استاد راهنما:
دکتر رزاق محمودی
دکتر علیرضا فراست

بیان مسئله و مقدمه

- ✓ انتروباکتر ساکازاکی
- ✓ مشخصات ساکازاکی

گرم	منفی
کاتالاز	مثبت
اکسیداز	منفی
اسپور	اسپورزا
تحرک	متحرک توسط فلاژل



- تشخیص کرونوباکتر

بیان مسئله و مقدمه

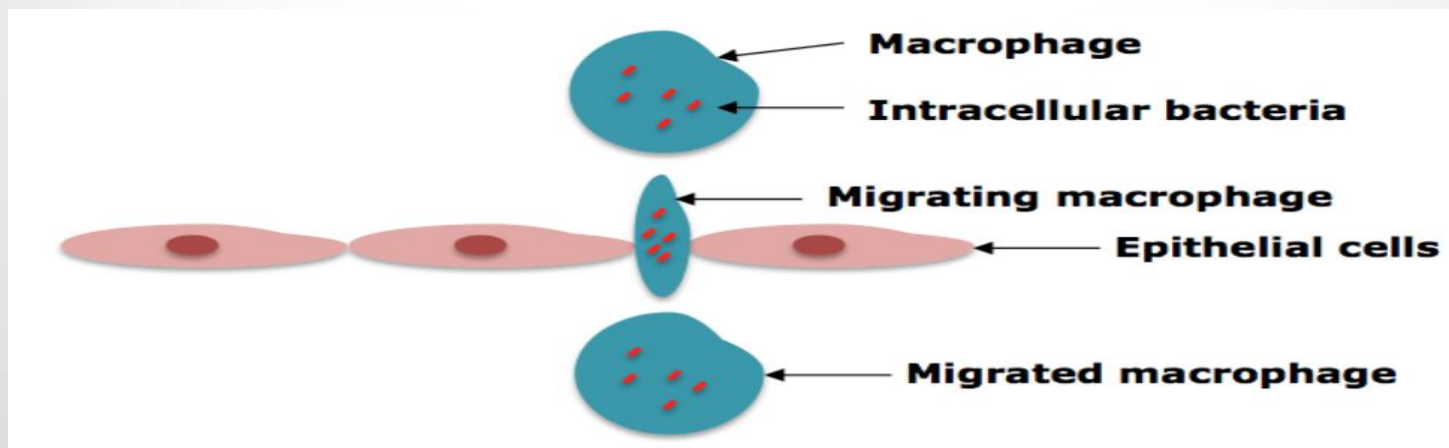
✓ عفونت زایی انتروباکتر ساکازاکی

✓ فرصت طلب

✓ انتروتوکسین

✓ زنده مانى در ماکروفاژ

✓ نحوه ایجاد مننژیت توسط باکتری ساکازاکی عبور باکتری ها از سد خونی مغزی به سه روش می باشد که شامل: ۱- عبور از داخل سلول، ۲- عبور از بین سلول، ۳- عبور با استفاده از ماکروفاژ که به مکانیسم اسب تروجان معروف است.





بیان مسئله و مقدمه

✓ ژن های مرتبط با عفونت انتروباکتر ساکازاکی

✓ ژن *OmpA*

✓ برای تهاجم ← سنتز پروتئین ← تغییر ساختمان سلول

✓ ژن *Soda*

✓ توانایی زنده ماندن در ماکروفاژها

✓ محافظت از باکتری در برابر ROS



بیان مسئله و مقدمه

✓ ژن های مرتبط با التهاب در سلول
✓ *IL8*

✓ منشا

✓ ژن *NF-Kb*

✓ یک تنظیم کننده مهم در بسیاری از فرآیندهای سلولی شامل کنترل پاسخهای التهابی، رشد و تمایز سلولی است.



بیان مسئله و مقدمه

✓ مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی

✓ پروبیوتیک

✓ انواع پروبیوتیک

✓ مخمر بولاردی و تاریخچه

✓ مشخصات مخمر بولاردی

✓ خواص درمانی ساکارومایسز بولاردی

✓ مکانیزم های عمل ساکارومایسز بولاردی

✓ اثرات ضد میکروبی ساکارومایسز بولاردی



جمع بندی و نتیجه گیری بیان مسئله

اثرات ضد میکروبی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی بر روی میکروب‌های مختلف، از طریق بسیاری از مطالعات به اثبات رسیده است. انتروباکترساکازاکی، میکروارگانیسمی فرصت‌طلب می‌باشد که در محصولات پودری فرآوری شده همانند شیرخشک به عنوان یک آلودگی ثانویه مطرح می‌باشد که میتواند سبب ایجاد بیماری‌های مختلفی از جمله: مننژیت، انتروکولیت، نکروزان در نوزادان به‌ویژه در نوزادان نارس با وزن کم در هنگام تولد گردد. در این مطالعه، اثرات مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس سرویزیه واریته بولاردی بر بیان ژن‌های *OmpA*، *SodA* و بیان ژن‌های *IL8*، *NF-kB* در رده سلولی *CaCo2* آلوده شده به باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکترساکازاکی مورد بررسی قرار گرفته است.



اهداف پژوهش

اثرات مخمر پروبیوتیک ساکارومایسی سرویزیه وارپته بولاردی بر بیان ژن های
حدت *OmpA*، *Soda* و بیان ژن های *IL8*، *NF-κB* در رده سلولی CaCo2
آلوده شده به باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی



اهداف پژوهش

اهداف اختصاصی:

- بررسی اثر مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی بر بیان ژن *sodA* در رده سلولی *Caco-2* آلوده به پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی
- بررسی اثر مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی بر بیان ژن *ompA* در رده سلولی *Caco-2* آلوده به پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی
- تعیین اثر ضد التهابی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه وارسته بولاردی بر بیان ژن *IL8* در رده سلولی *Caco-2* عفونی شده توسط باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی
- تعیین اثر ضد التهابی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه وارسته بولاردی بر بیان ژن *NF-kB* در رده سلولی *Caco-2* عفونی شده توسط باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی



اهداف پژوهش

اهداف کاربردی:

- بررسی امکان استفاده از پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی در صنعت به ویژه تولید پودر شیر خشک پروبیوتیک شده برای جلوگیری از انتقال آلودگی های مربوط به انتروباکتر ساکازاکی در نوزدان.
- بررسی امکان استفاده از ساکارومایسز بولاردی به عنوان یک عامل ضد التهاب در بیماری های عفونی گوارشی مقاوم به آنتی بیوتیک.
- بر اساس نتایج حاصل از طرح استراتژی های بهداشت و سلامت جهت تولید مکمل های جلوگیری کننده از بیماری های قابل انتقال با شیر خشک از جمله مننژیت و عفونت های گوارشی انجام خواهد شد.

فرضیات

✓ مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه واریته بولاردی در مجاورت با رده سلولی *Caco-2* آلوده شده به پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی سبب کاهش بیان ژن حدت *sodA* می شود.

✓ مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه واریته بولاردی در مجاورت با رده سلولی *Caco-2* آلوده شده به پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی سبب کاهش بیان ژن حدت *ompA* می شود.

✓ اثر ضد التهابی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه واریته بولاردی باعث کاهش بیان ژن *IL8* در رده سلولی *Caco-2* عفونی شده توسط باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی است.

✓ اثر ضد التهابی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز سرویزیه واریته بولاردی باعث کاهش بیان ژن *NF-kB* در ردیف سلولی *Caco-2* عفونی شده توسط باکتری پاتوژن غذازاد انتروباکتر ساکازاکی است.



مروری بر مطالعات و متون گذشته

محققین	سال	یافته ها
Fortin و همکاران	۲۰۱۸	اثر مخمر ساکارومایسس بولاردی بر درمان سرطان کولون بررسی شد، نشان دادند که عصاره دیواره مخمر ساکارومایسس بولاردی می تواند جلوگیری کند از ضایعات پیش سرطانی کولون.
Yang و همکاران	۲۰۱۷	اثر ساکارومایسس بولاردی به عنوان یک عامل ضد التهاب علیه باکتری هلیکوباکتر بررسی شد، در این مطالعه از موش های آزمایشگاهی به صورت ۴ گروه ۵ تایی استفاده کرده و به صورت خوراکی موش ها را به باکتری هلیکوباکتر آلوده شده و در مدت زمان ۱۲ هفته توسط ساکارومایسس بولاردی حل شده در آب مقطر استریل به جای آب آشامیدنی موش ها راتیمار و پس از ۱۲ هفته موش ها را ذبح کرده، مشخص گردید که ساکارومایسس بولاردی در درمان هلیکوباکتر و سایر بیماری های عفونی در انسان مفید می باشد
Warila و همکاران	۲۰۱۷	اثر مخمر ساکارومایسس بولاردی بر درمان عفونت مکرر کلستریدیوم دیفیسیل بررسی شد، در این مطالعه مشخص گردید که استفاده از مخمر بولاردی برای درمان عفونت ناشی از کلستریدیوم دیفیسیل موثر می باشد



مروری بر مطالعات و متون گذشته

محققین	سال	یافته ها
Villar-Garcia و همکاران	۲۰۱۷	اثر مخمر بولاردی بر روی میکروبیوم روده در بیماران اچ آی وی تحت درمان بررسی شد، این مطالعه به صورت تصادفی، دوسوکور، کنترل شده با دارونما بر روی ۲۴ بیمار دارای اچ آی وی تحت کنترل به مدت ۱۲ هفته صورت گرفت و مشخص گردید که مخمر بولاردی توانایی اثر بر روی میکروبیوم روده بیماران داشته است.
Kurugöl و همکاران	۲۰۰۵	اثر مخمر بولاردی بر درمان اسهال حاد در کودکان بررسی شد، در این مطالعه تعداد ۲۰۰ نمونه به صورت تصادفی انتخاب شده و به دو گروه تقسیم شدند، گروه اول بولاردی را برای درمان اسهال دریافت کرده و به گروه دوم دارونما داده شد، این مطالعه نشان داد که گروه درمان شده با بولاردی به نسبت گروه درمان شده با دارونما روند بهبودی مناسب تری داشته به صورتی که تمامی کودکان بجز یک کودک بصورت کامل درمان شده اند.
Sougioultzis و همکاران	۲۰۰۶	اثر ضد التهابی مخمر بولاردی بر روی دو سل لاین بررسی شد، نشان دادند که عصاره مخمر ساکارمایسز بولاردی می تواند سبب کاهش IL8، NF-KB شود که این نشان دهنده خاصیت ضد التهابی مخمر ساکارومایسز بولاردی می باشد.



تحقیقات دیگران	تحقیق انجام شده	مطابقت	عدم مطابقت
طبق نتایج بدست آمده از تحقیق نمکین و همکاران ، مشخص گردید که مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی بر روی باکتری هلیکوپیلوری سبب درمان می گردد ولی به تنهایی سبب ریشه کن کردن بیماری نمیگردد و نیازمند به درمان های تکمیلی می باشد.	این گزارش، با تحقیق انجام شده مطابقت دارد	✓	
طبق تحقیقات فیضی زاده و همکاران، به منظور بررسی اثرات مخمر بولاردی برای درمان اسهال حاد انجام شد، این بررسی به صورت متاآنالیز نشان می دهد که مخمر بولاردی بی خطر است و در کودکانی که اسهال حاد دارند دارای اثرات مفیدی می باشد	این گزارش، با تحقیق انجام شده مطابقت دارد	✓	
طبق تحقیقات آخوندی میبدی و همکاران، به منظور بررسی اثر مخمر پروبیوتیک بولاردی بر درمان سندرم روده تحریک پذیر انجام شد، در این بررسی مشخص گردید که استفاده از مخمر بولاردی سبب کاهش علائم ناشی از سندرم روده تحریک پذیر می گردد	این نتایج با تحقیق انجام شده مطابقت دارد	✓	

مواد و روش کار

✓ نوع تجربی بود.

✓ جامعه مورد مطالعه :

جامعه مورد مطالعه، سلول های $CaCo_2$ عفونی شده توسط باکتری ساکازاکی بود.

✓ انتخاب گروه های آزمایشی و روند کلی طرح:

در این پروژه سلول ها به دو دسته کلی تقسیم گردیدند: دسته اول، سلول های کنترل که برای آنها از محیط کشت فاقد باکتری ساکازاکی و مخمر بولاردی استفاده شده است و دسته دوم سلول های مورد آزمایش که به صورت ۳ تکرار، برای بررسی تغییرات بیان ژن های *Soda*، *OmpA*، *IL-8* و *NF-kB* نیز به صورت ۴ تکرار برای بررسی *MTT* به کار رفته بود. این متد در ۲ فاصله زمانی ۲ ساعت برای هر تیمار اجرا گردید.

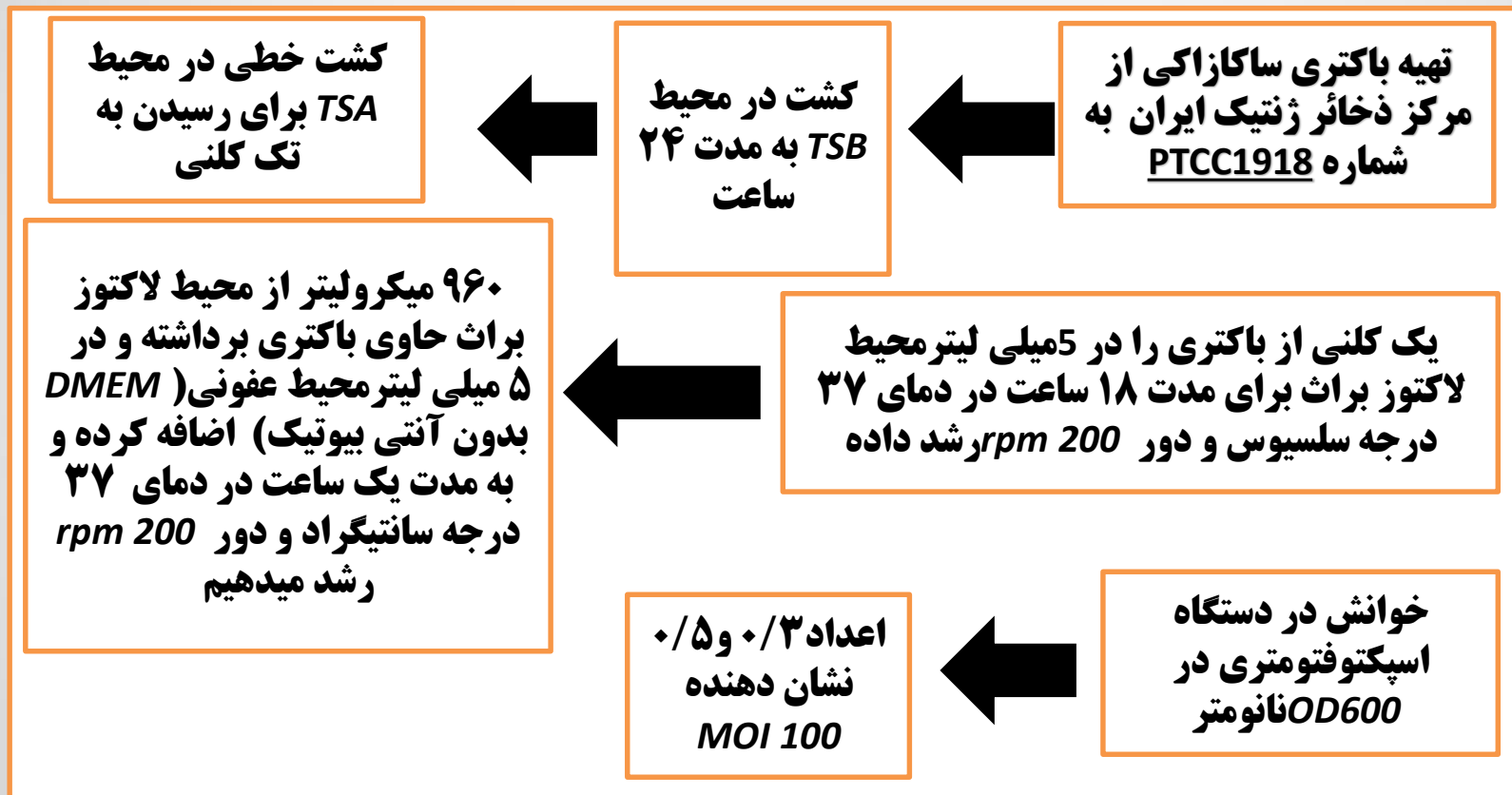
روش های به کار رفته در اجرای طرح:

در این پروژه از تکنیک های سلولی و مولکولی استفاده گردید.



مواد و روش کار

آماده سازی باکتری کرونوباکتر ساکازاکی:



مواد و روش کار

آماده سازی مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی:

خریداری مخمر ساکارومایسز سروزیه واریته
بولاردی از مرکز کلکسیون میکروبی آمریکا ATCC
74012



ابتدا ساکارومایسز سروزیه واریته
بولاردی را به صورت لیوفیلیزه در محیط
عفونی (DMEM بدون آنتی بیوتیک) به
مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه
سانتیگراد و در دور rpm 200 کشت داده

میزان 1 سی سی از محیط عفونی برداشت کرده و در 5 میلی لیتر محیط DMEM و به مدت یک
ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در دور rpm 200 رشد میدهیم



مواد و روش کار

آماده سازی سلول Caco-2:

خریداری رده
سلولی Caco2 از
مرکز انیستیتو پاستور

سلول Caco-2 نگهداری شده در DMEM با ۱۰ درصد FBS در فلاسک
های ۱۷۵ سانتی متر مربع قرار داده و سپس فلاسک ها را در اتمسفر ۵
درصد CO2 و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد

پس از رشد سلول ها تا حد ۷۰ یا ۸۰ درصد سطح فلاسک، ۳ بار توسط
PBS سلول ها را شستشو داده

۵ میلی لیتر تریپسین
اضافه کرده تا حدی که
یک لایه سطح سلول را
بیوشاند و به مدت ۱۰
دقیقه در دمای ۳۷
درجه سانتیگراد در
انکوباتور می گذاریم

کشت در پلیت
های ۶ چاهک
و انکوبه کردن
برای ۲ تا ۳
روز

شمارش
سلول ها

اضافه کردن
۱۰ میلی لیتر
محیط کامل

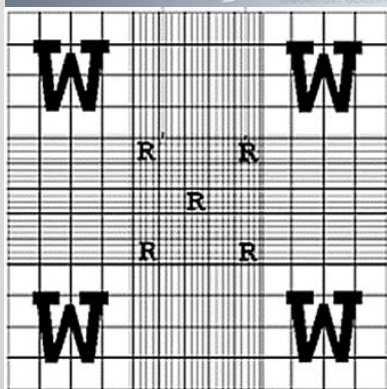


مواد و روش کار

شمارش سلول ها:

تهیه سوسپانسیون سلولی در حجم ۱ میلی لیتر

ترکیب حجم مشخصی از محلول تریپان بلو (مثلاً ۵۰ میکرولیتر) با همان حجم از سوسپانسیون سلولی، در یک تیوپ ۱ میلی لیتری ریخته و به آرامی پیتاژ می کنیم



در حدود ۱۰ مایکرولیتر از سوسپانسیون رنگ شده را از گوشه لامل واقع در سطح فوقانی لام نئوبار به فضای بین لامل و لام ریخته و به زیر میکروسکوپ انتقال می دهیم.

مواد و روش کار

اثر سمیت باکتری کرونوباکتر ساکازاکی بر رده سلولی $CaCo2$

ابتدا رده سلولی $CaCo2$ را به تعداد 40000 سلول در هر چاهک کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد



باکتری ساکازاکی آماده شده در محیط عفونی به میزان 4000000 cfu به هر چاهک اضافه شد و سپس به مدت ۱ و ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و ۵ درصد $CO2$ انکوبه گردید



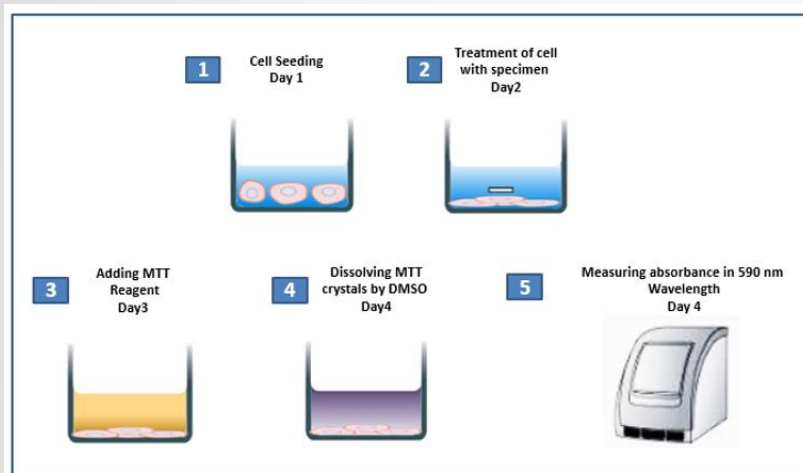
۳ مرتبه شستشو با PBS



اضافه کردن محلول MTT و انکوبه کردن به مدت ۳ ساعت



خارج کردن محلول MTT و اضافه کردن محلول DMSO پس از ۱۰ دقیقه خوانش توسط دستگاه الایزا





مواد و روش کار

اثر سمیت مخمر ساکارومایسز بولاردی بر رده سلولی *caco2*

ابتدا رده سلولی $CaCo2$ را به تعداد 40000 سلول در هر چاهک کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد



مخمر ساکارومایسز بولاردی آماده شده در محیط عفونی به میزان $4,000,000$ CFU به هر چاهک اضافه شد و سپس به مدت ۱ و ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و ۵ درصد $CO2$ انکوبه گردید.

پس از گذشت زمان مورد نظر چاهک ها ۳ بار توسط PBS شستشو داده شدند پس از آن محلول MTT به چاهک ها اضافه شده و برای مدت زمان ۳ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند



پس از گذشت ۳ ساعت محلول MTT از چاهک ها خارج شده و به هر چاهک محلول DMSO اضافه گردید پس از گذشت ۱۰ دقیقه پلیت ها در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الیزاریدر خوانش شدند



مواد و روش کار

آزمون اتصال باکتری کرونوباکتر ساکازاکی به رده سلولی $CaCo2$

باکتری ساکازاکی آماده شده در محیط عفونی به میزان 4000000 cfu به هر چاهک اضافه شد و سپس به مدت ۱ و ۲ ساعت در دمای 37°C و ۵ درصد CO_2 انکوبه گردید

ابتدا رده سلولی $CaCo2$ را به تعداد 40000 سلول در هر چاهک کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 37°C انکوبه شد

با استفاده از PBS رقت سازی کرده و در محیط TSA به مدت ۱۸ ساعت در دمای 37°C رشد داده شد و با استفاده از فرمول اتصال میزان اتصال باکتری رده سلولی $CaCo2$ مشخص گردید

سلول ها توسط ۱ درصد حجمی حجمی ترایتون $100 \times$ لیز داده شد

۳ مرتبه شستشو با PBS



مواد و روش کار

آزمون تهاجم باکتری کرونوباکتر ساکازاکی به رده سلولی $CaCo2$

باکتری ساکازاکی آماده شده در محیط عفونی به میزان 4000000 cfu به هر چاهک اضافه شد و سپس به مدت ۱ و ۲ ساعت در دمای 37°C درجه و ۵ درصد CO_2 انکوبه گردید

ابتدا رده سلولی $CaCo2$ را به تعداد 40000 سلول در هر چاهک کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 37°C درجه انکوبه شد

مرتبۀ ۱
شستشو با
PBS

۰.۵ میلی لیتر محیط عفونی بدون باکتری به چاهک اضافه میگردد و سپس به میزان $125 \mu\text{g/ml}$ جنتامایسین به هر چاهک اضافه میگردد و برای مدت زمان ۱ ساعت در دمای 37°C درجه و ۵ درصد CO_2 انکوبه شد

مرتبۀ ۳
شستشو با
PBS

سایر مراحل از قسمت لیز کردن همانند آزمون اتصال صورت میگیرد

مواد و روش کار

استخراج RNA و ساخت CDNA

سلول پس از مواجهه با باکتری و مخمر در زمان های ۱ و ۲ ساعت توسط کیت تجاری استخراج شدند.

مراحل استخراج:

۱- برداشت نمونه سلولی

۲- سانتریفیوژ

۳- لیز کردن توسط بافر

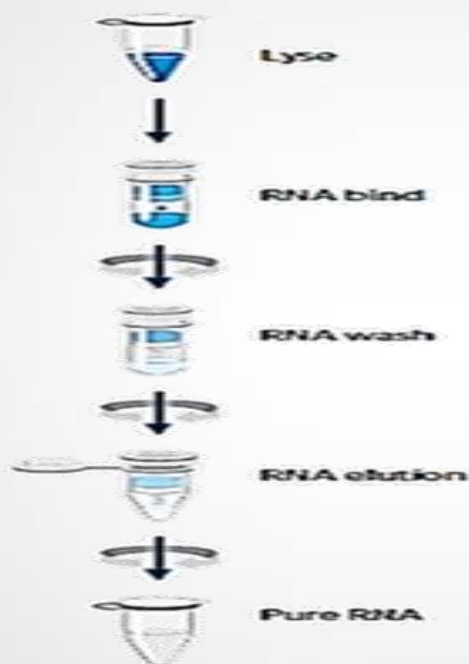
۴- اضافه کردن آب فاقد نوکلئاز به مرکز ستون

۵- بررسی کیفیت RNA استخراج شده توسط دستگاه

نانودراپ

برای ساخت CDNA نیز مراحل بر اساس دستورات کیت تجاری

انجام گرفت.



مواد و روش کار

آزمایش RT-PCR برای ژنهای *OmpA* – *Soda-NFKb-IL8*

برای انجام آزمایش RT-PCR، از دستگاه *ROTORGENQ 6000* و مستر میکس *AMPLIQON* استفاده شده است.

پرایمرهای مورد استفاده بر اساس مقالات معتبر انتخاب شده و جهت سنتز به شرکت ماکروژن سفارش داده شد
پرایمرهای انتخابی:

OmpA F: TGAGCAACCTGGATCCGAAA
OmpA R: GGAGATCTTGTTGGACGGGA
Soda F: TCGAACGGGCAATCATGAAC
Soda R: GCAATCTCTTCTGCACTCGG
IL8F: TGGCTCTCTTGGCAGCCTTC
IL8R: TGCACCCAGTTTTCTTGGG
NF-κBF: ATTCCGCTATGTGTGTGAAGG
NF-κBR: GTGACCAACTGAACGATAACC





مواد و روش کار

آزمایش RT-PCR برای ژن های *OmpA – Soda-NFKb-IL8*

مقادیر واکنش:

نام ماده	مقدار ماده (میکرولیتر)
Master Mix	۱۰
Primer F	5/0
Primer R	5/0
Template	2
Water	7
Total Volume	20

Temperature	Time	Number of cycles
۹۴ °C	۳Min	۱
۹۵ °C	۱Min	۳۰
۵۰ °C	۱Min	
۷۲ °C	۱Min	

temperature	Time	Number of cycles
۹۴°C	۳min	۱
۹۵°C	۱min	۳۰
۵۰°C	۱min	
۷۲°C	۱min	

Temperature	Time	Number of cycles
۹۵°C	۵min	۱
۹۴°C	۳۰ sec	۴۰
۶۳°C	۳۰ sec	
۷۲°C	۳۰ sec	

Temperature	Time	Number of cycles
۹۵°C	۳min	۱
۹۵°C	۱min	۳۵
۵۶°C	۱min	
۷۲°C	۳۰sec	

مواد و روش کار

✓ طرح آماری مورد استفاده در این پژوهش شامل سه تکرار برای هر تیمار بود.

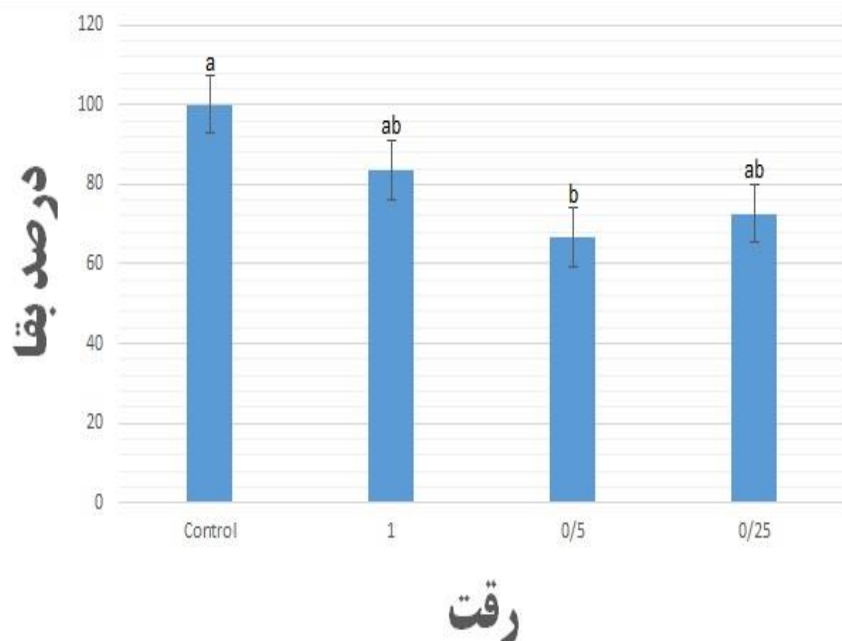
✓ آنالیز آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (Anova) و در برنامه SPSS انجام شد.



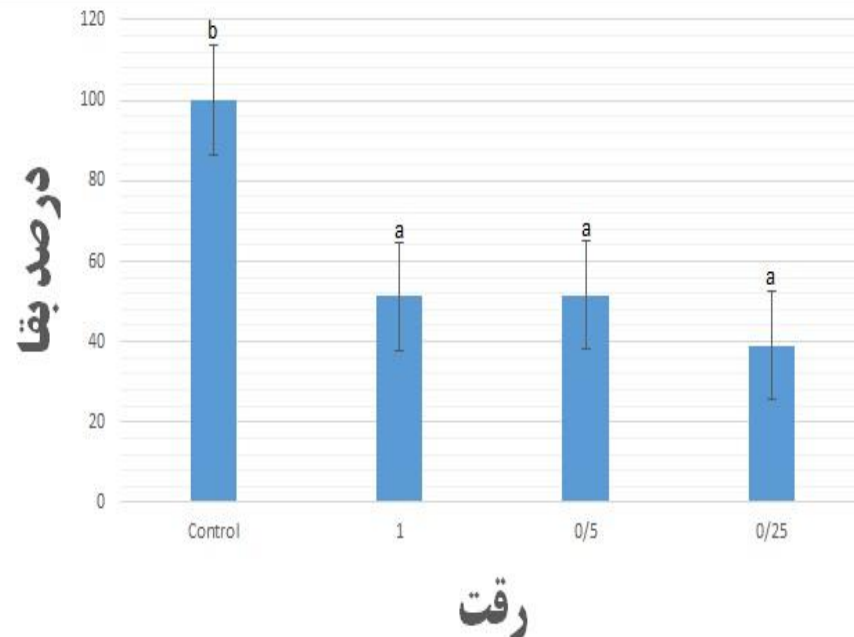
نتایج و بحث

✓ - آنالیز بقای سلول ها پس از ۱ و ۲ ساعت مواجهه با رقت های باکتری ساکازاکی

۱ ساعت



۲ ساعت

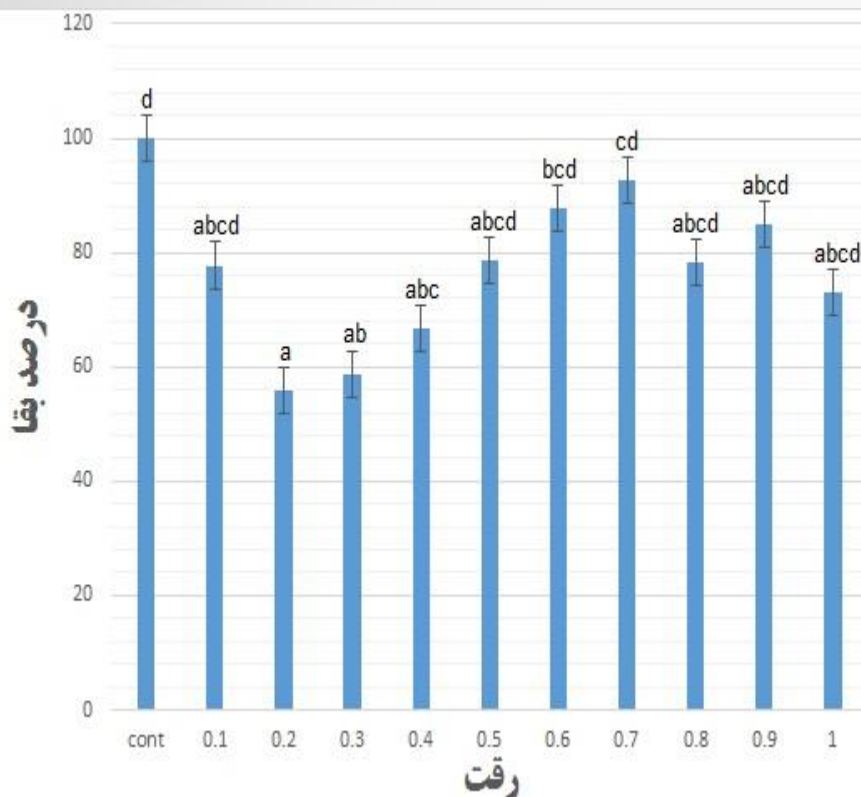




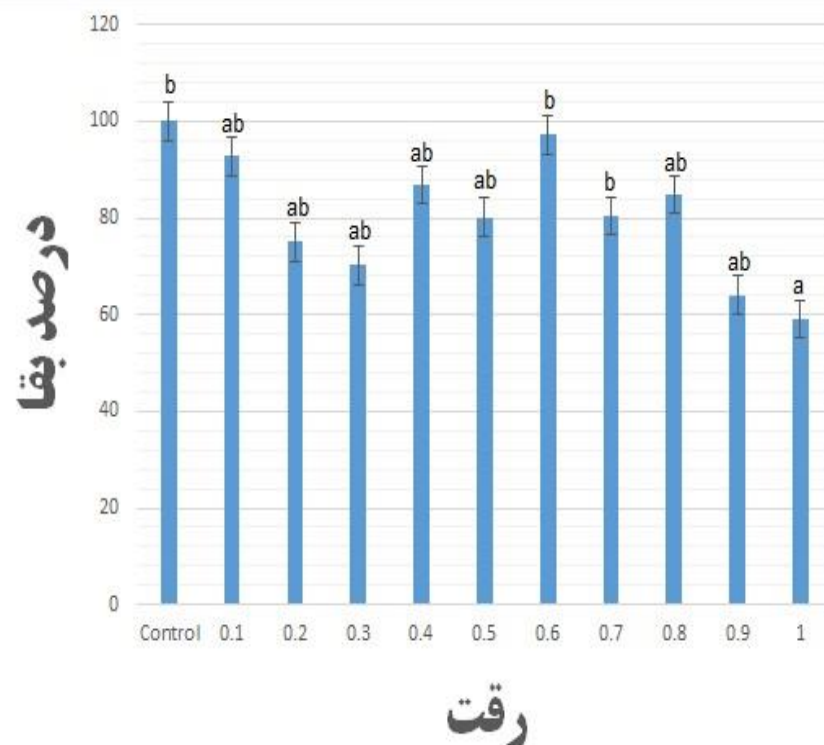
نتایج و بحث

✓ آنالیز بقای سلول‌ها پس از ۱ و ۲ ساعت مواجهه با رقت‌های مخمر بولاردی

۱ ساعت



۲ ساعت

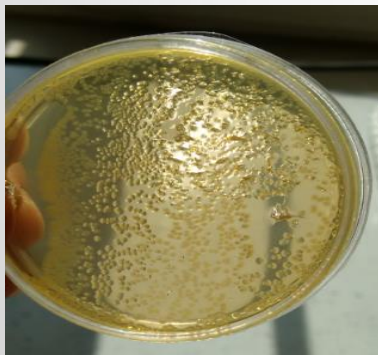


نتایج و بحث

✓ نتایج آزمایش اتصال باکتری کرونوباکتر ساکازاکی به رده سلولی *CaCo2*

$$\% \text{ efficiency of attachment} = \frac{\text{The total number of attached bacterial cells (cfu/ml)}}{\text{The total number of bacterial cells in inoculum (cfu/ml)}} \times 100$$

با استفاده از فرمول درصد اتصال باکتری ساکازاکی و انجام میانگین برای داده‌های به دست آمده اثبات گردید که باکتری ساکازاکی توانایی اتصال به رده سلولی *caco2* را به میزان ۱۲ درصد دارا می‌باشد.



نتایج و بحث

✓ نتایج آزمایش تهاجم باکتری کرونوباکتر ساکازاکی به رده سلولی *CaCo2*

$$\% \text{ efficiency of invasion} = \frac{\text{The total number of invaded bacterial cells (cfu/ml)}}{\text{The total number of bacterial cells in inoculum (cfu/ml)}} \times 100$$

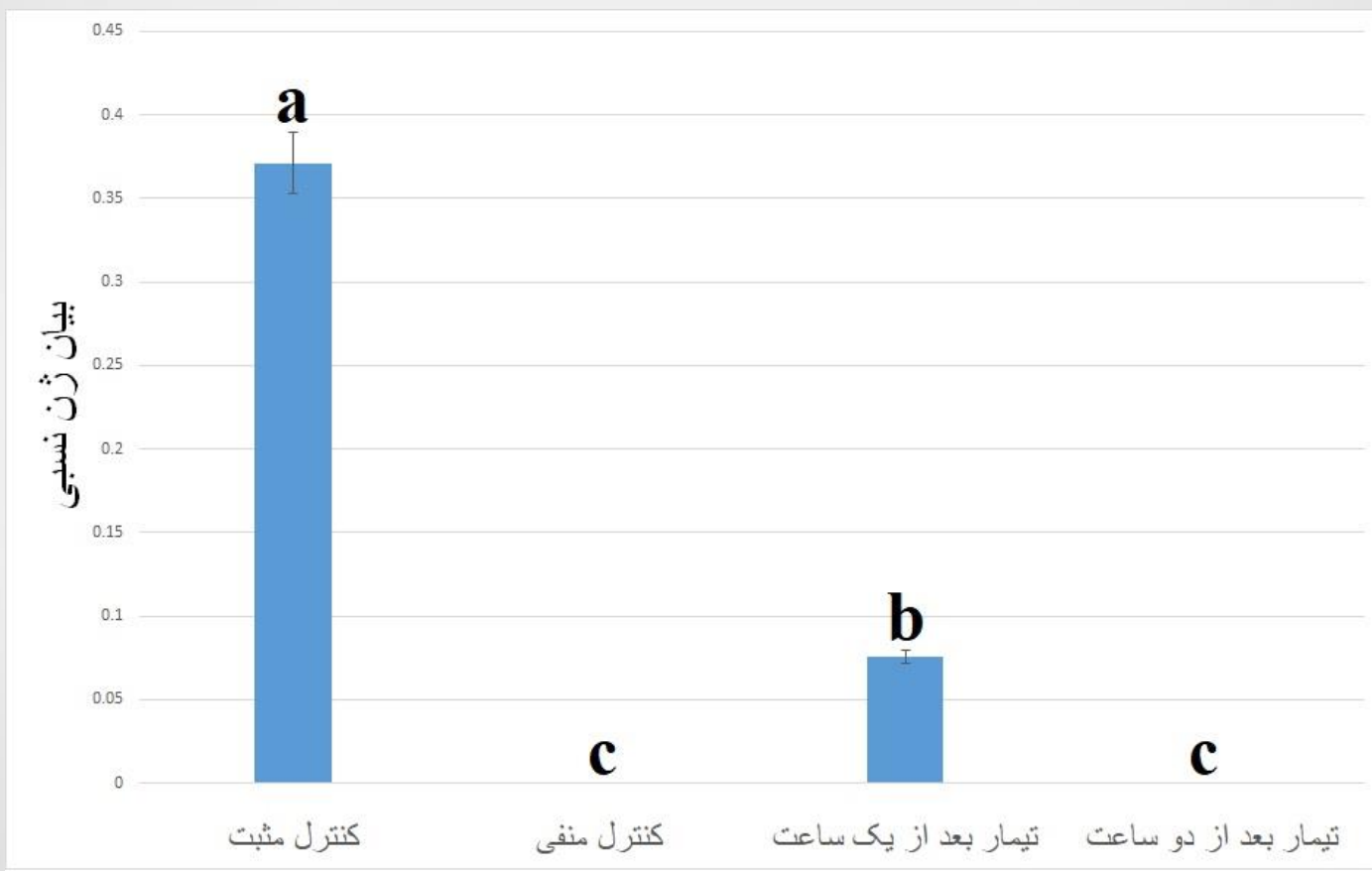
با استفاده از فرمول درصد تهاجم باکتری ساکازاکی و انجام میانگین برای داده‌های به دست آمده اثبات گردید که باکتری ساکازاکی توانایی تهاجم به رده سلولی *CaCo2* را به میزان ۱۰ درصد دارا می‌باشد.





نتایج و بحث

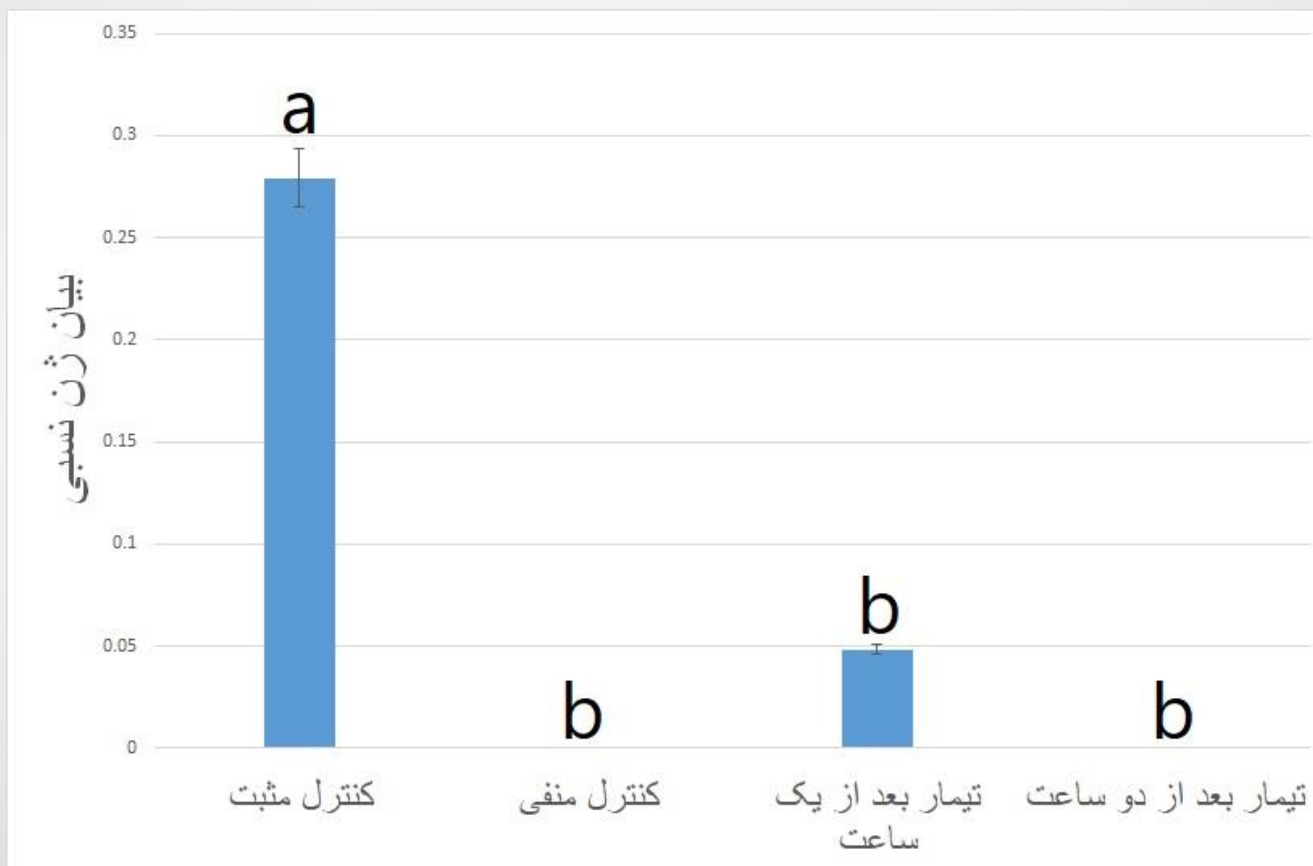
✓ نتایج بیان ژن OmpA، ۱ و ۲ ساعت پس از تیمار





نتایج و بحث

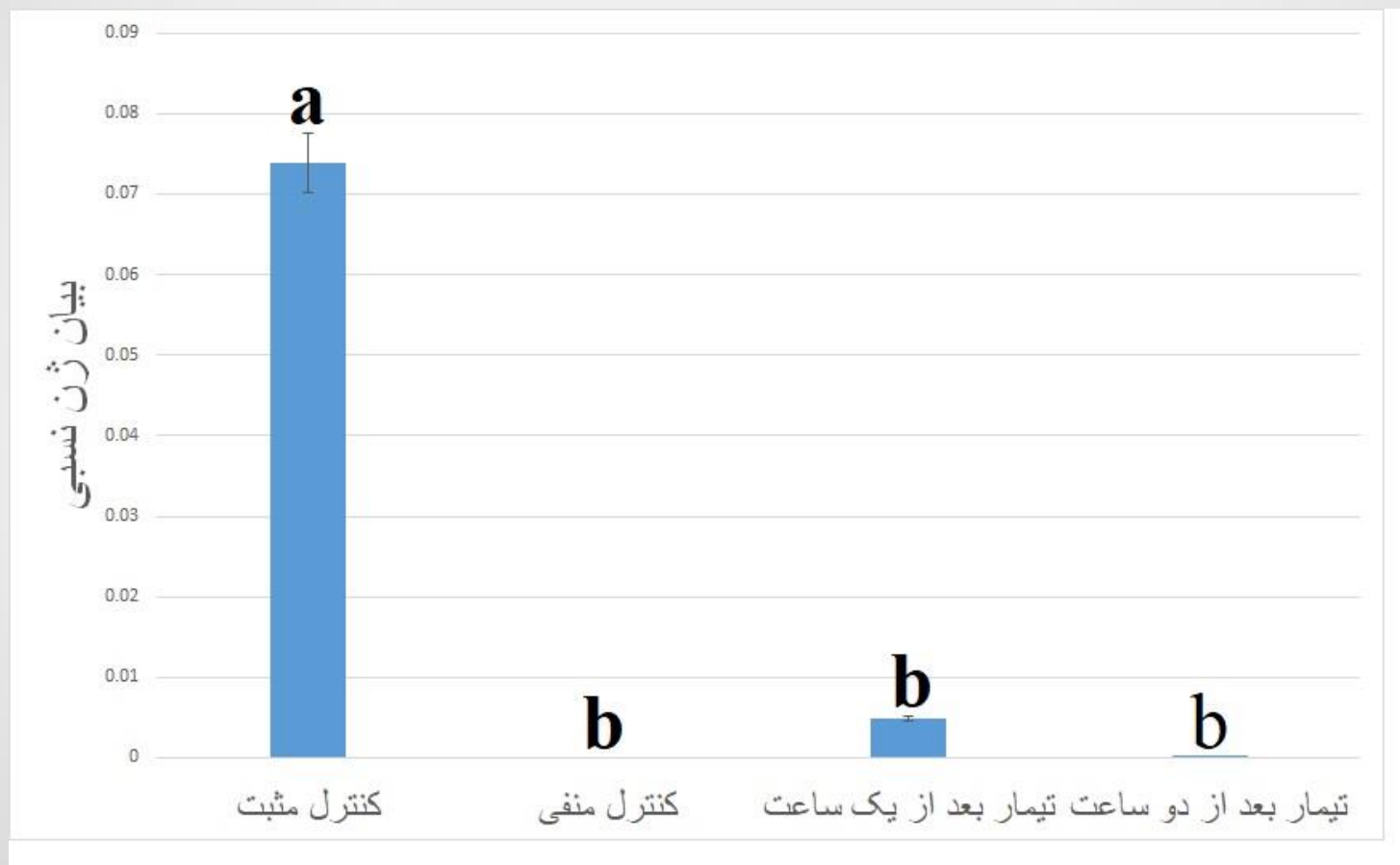
✓ نتایج بیان ژن Soda، 1 و 2 ساعت پس از تیمار





نتایج و بحث

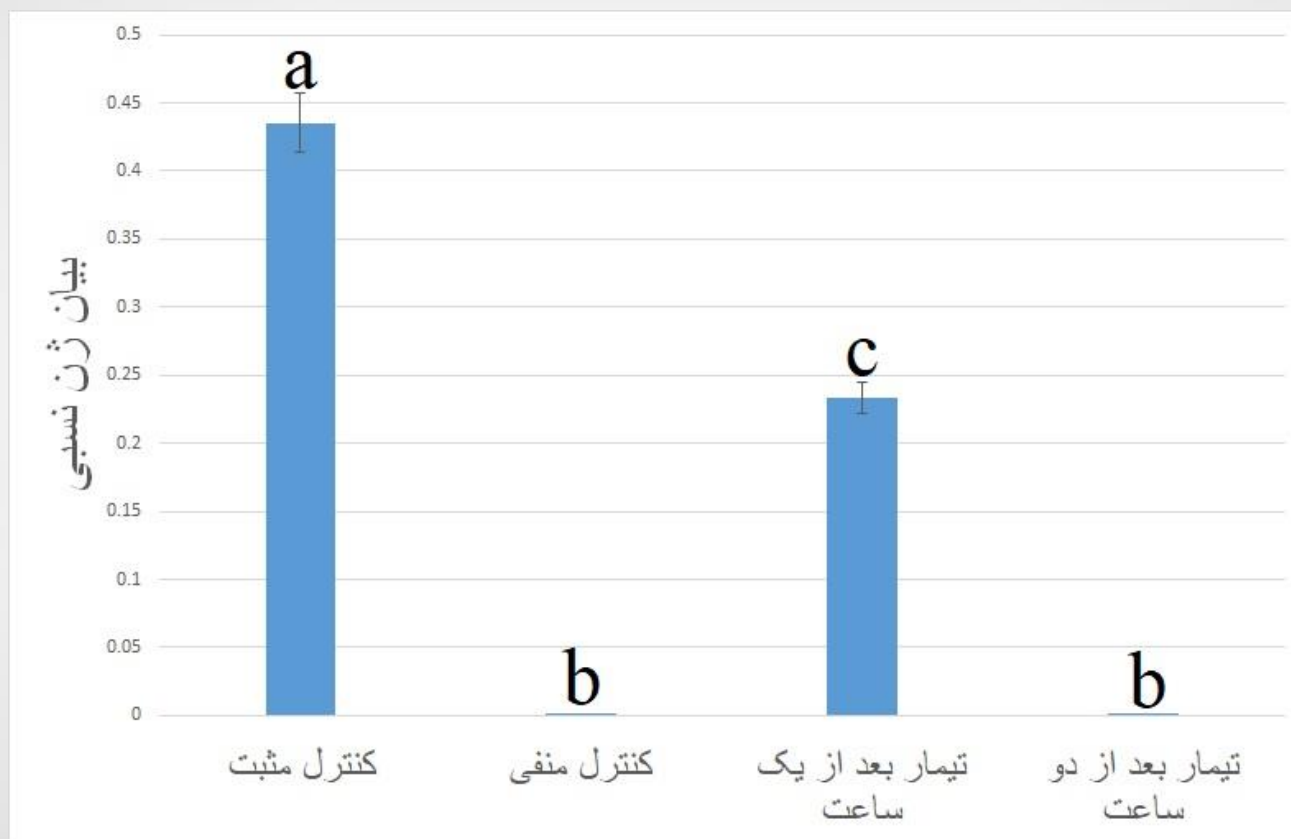
✓ نتایج حاصل از بیان ژن IL8، ۱ و ۲ ساعت پس از تیمار





نتایج و بحث

نتایج بیان ژن NF- κ B، ۲ ساعت پس از تیمار





نتایج و بحث

✓ اثرات ضد میکروبی بولاردی:

محقق	نوع آزمایش	یافته ها	همسو با پژوهش	نتیجه
گدک و همکاران	بررسی اثر مخمر بولاردی بر باکتری سالمونلا و اشرشیا کلای	مانوز موجود در بولاردی	بله	اثر ضد میکروبی مخمر بولاردی برای باکتری ساکازاکی در این پژوهش اثبات گردید
مک فارلند و همکاران	بررسی اثر مخمر بولاردی بر عفونت حاصل از کلستریدיום دیفیسیل	اثبات کاهش میزان عفونت ایجاد شده توسط دیفیسیل به وسیله مخمر بولاردی	بله	اثر ضد میکروبی مخمر بولاردی برای باکتری ساکازاکی در این پژوهش اثبات گردید



نتایج و بحث

ژن ompA ✓

محقق	نوع آزمایش	یافته ها	همسو بودن با پژوهش	نتیجه
مانگه و همکاران	بررسی مکانیسم بیماری زایی و فاکتور حدت باکتری ساکازاکی	سه الگوی متفاوت : - حالت اول اتصال توسط پیلی باکتری - حالت دوم اتصال ساده - حالت سوم ترکیبی از دو حالت بالا	بله	اثبات اتصال باکتری ساکازاکی و اثبات کاهش اتصال باکتری توسط مخمر بولاردی
پاکوتو و همکاران	بررسی تهاجم باکتری ساکازاکی	باکتری ساکازاکی برای تهاجم به ژن ompA نیازمند است	بله	بررسی بیان ژن ompA برای اثبات تهاجم باکتری ساکازاکی و اثبات کاهش این ژن توسط مخمر بولاردی
نیر و همکاران	بررسی اثر باکتری ساکازاکی به عنوان یک پاتوژن خوراکی سیستمیک	اثبات گردید که باکتری ساکازاکی از طریق گوارش وارد خون میشود	-	اهمیت بررسی این پاتوژن در صنعت شیر خشک



نتایج و بحث

ژن Soda

نتیجه	همسو بودن	یافته ها	نوع آزمایش	محقق
انتخاب ژن حدت soda برای اثبات اثر تهاجمی باکتری ساکازاکی	بله	ساکازاکی برای حمله به سلول های اپیتلیال روده باید توانایی زنده مانی در ماکروفاژها را داشته باشد که این توانایی توسط ژن soda صورت میگیرد و همچنین این ژن سبب محافظت از باکتری در برابر ROS میشود	نحوه بیماری زایی باکتری ساکازاکی و اهمیت بیان ژن soda	تاووزند و همکاران



نتایج و بحث

➤ ژن IL8

محقق	آزمایش	یافته ها	همسو بودن	نتیجه
چیو و همکاران	بررسی کرونوباکتر ساکازاکی در رده سلولی Caco2 و میزان بیان ژن IL8	حضور کرونوباکتر ساکازاکی در رده سلولی Caco2 سبب افزایش IL8 میگردد	بله	اثر باکتری ساکازاکی بر رده سلولی Caco2 و بررسی بیان ژن IL8 و نیز اثر مخمر بولاردی بر بیان ژن IL8
استاورس و همکاران	بررسی اثرات مخمر ساکارومایسز بولاردی بر بیان ژن IL8	مخمر ساکارومایسز بولاردی توانایی کاهش اینترلوکین ۸ را دارا می باشد و میتواند میزان التهاب را کاهش دهد	بله	اثر مخمر بولاردی بر بیان ژن IL8 در رده سلولی Caco2 آلوده شده به باکتری ساکازاکی



نتایج و بحث

ژن NF-kB

سالا و همکاران	یورسی اثر ژن ompA بر بیان ژن NF-kB	حضور ژن ompA سبب افزایش التهاب در نتیجه افزایش ژن NFkB میشود	بله	اثر باکتری ساکاراکی و ایجاد عفونت توسط بیان ژن OMPA و تیمار توسط مخمر بولاردی و اثر کاهشی بر بیان ژن NFkB
بای و همکاران	بررسی اثرات ضد التهابی مخمر بولاردی	مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی حین عفونت ایجاد شده توسط گونه های مایکوباکتریوم سبب کاهش NF-kB	بله	اثر باکتری ساکاراکی و ایجاد عفونت توسط بیان ژن OMPA و تیمار توسط مخمر بولاردی و اثر کاهشی بر بیان ژن NFkB

نتیجه گیری

در مجموع، آنالیز بیان ژن های *OmpA*، *Soda*، *NF-kB*، *IL8* پس از تیمار با مخمر پروبیوتیک

ساکارومایسز بولاردی نشان داد :

- ۱- ژن *OmpA* در رده سلولی *CaCo2*، نشان دهنده بیان ژن پاتوژنز باکتری ساکازاکی می باشد کاهش بیان این ژن در اثر تیمار با مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی دیده شد.
- ۲- ژن *Soda* در رده سلولی *CaCo2*، نشان دهنده بیان ژن پاتوژنز باکتری ساکازاکی می باشد کاهش بیان این ژن در اثر تیمار با مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی دیده شد.
- ۳- ژن *IL-8* در رده سلولی *CaCo2*، نشان دهنده پاسخ التهابی نسبت به باکتری ساکازاکی می باشد، کاهش بیان این ژن در اثر تیمار با مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی دیده شد.
- ۴- ژن *NF-kB* در رده سلولی *CaCo2*، نشان دهنده پاسخ التهابی نسبت به باکتری ساکازاکی می باشد، کاهش بیان این ژن در اثر تیمار با مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی دیده شد.
- ۵- مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی می تواند به عنوان یک مکمل غذایی، همراه با مواد و داروهای ضد عفونت، جهت از بین بردن سلول های عفونی مصرف گردد.



نتیجه گیری

یافته‌های این تحقیق نشان دادند که اثرات ضد مکانیسم بیماری زایی مشاهده شده برای مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی در این تحقیق، در راستای اثراتی است که در سایر تحقیقات نیز گزارش گردیده‌اند. این اثر، احتمالاً به علت مکانیسم ضد عفونت مخمر بولاردی می‌باشد، زیرا در این پروژه نشان داده شد که در رده سلولی $CaCo2$ ، مخمر پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی، سبب کاهش بیان ژن‌های حدت $OmpA$ ، $SodA$ و کاهش بیان ژن‌های $NF-\kappa B$ ، $IL8$ می‌گردد.



پیشنهادهات کاربردی

امکان استفاده از پروبیوتیک ساکارومایسز بولاردی در صنعت به ویژه تولید پودر شیر خشک پروبیوتیک شده برای جلوگیری از انتقال آلودگی های مربوط به انتروباکتر ساکازاکی در نوزدان.

امکان استفاده از ساکارومایسز بولاردی به عنوان یک عامل ضد التهاب در بیماری های عفونی گوارشی مقاوم به آنتی بیوتیک.

پیشنهادهات پژوهشی

با توجه به اثرات ضد عفونت مشاهده شده در این تحقیق بر روی سلول های $CaCo_2$ و همچنین اثرات ضد رشد و ضد سرطانی آن در دیگر رده های سلولی و سرطان ها، پیشنهاد می گردد که بررسی های بیشتری بر روی بیان ژن های حدت و ضد التهابی در این رده سلولی، با روش RT-PCR، برای روشن شدن بیشتر مکانیسم اثر آن، صورت گیرد.

تشکر و قدردانی..

مراتب سپاس و قدردانی خویش را از سر صدق و اخلاص به محضر اساتید گرانقدر آقایان دکتر محمودی، دکتر فراست، که در نهایت سعه صدر و خالصانه همواره با حمایت ها و رهنمودهای ارزشمند و سازنده، اینجانب را در انجام این پایان نامه مورد محبت خویش قرار داده اند، ابراز می دارم.

همچنین از حمایت های ارزنده استاتید ارجمند آقایان دکتر قجریگی و دکتر پیمانی، که در کلیه مراحل تحقیق با راهنمایی و مشاوره های اندیشمندانه خود برای تکمیل و ارتقاء کیفیت این رساله کمک موثری داشته اند، نهایت تشکر و قدردانی را به جای آورم.

از خانواده عزیز و گرامی ام که در طول تحصیل همواره سنگ صبور و حامی من بودند و سعی کردند که من دغدغه ای به جز کسب علم و دانش نداشته باشم ممنون و سپاسگزارم و از خداوند بزرگ سلامتی، پیشرفت و بهروزی برایش آرزو مندم.

از کارشناسان محترم دانشکده سرکار خانم ها پیشخوان و موسوی تشکر می کنم.



مقالات مستخرج از پایان نامه + تصویر مقاله و مجله

Mobile view About

b.pakbin@ut.ac.ir Logout



Mail

Address Book

Settings

Back Compose Reply

Reply z Forwar Delete Move Print Junk Mark More

Inbox 300

Drafts

Sent

Junk

Trash

Deleted Messages

RE: Paper Submission - Sa...

Message 3 of 6

From Liviu Giurgiulescu
To 'Babak Pakbin'
Date 2020-05-28 20:44

Dear author,

Thank you for contribution. Manuscript titled "Anticancer effect of Probiotic *Saccharomyces boulardii* supernatant on human caco-2 cells; an in vitro study" was introduced in review process. Please consider for future conversation number CJFST80May2020

Regards,

Liviu GIURGIULESCU

Editor in chief Carpathian Journal of Food Science and Technology

Mobile view About

b.pakbin@ut.ac.ir Logout



Mail

Address Book

Settings

Back Compose Reply

Reply z Forwar Delete Move Print Junk Mark More

Inbox 300

Drafts

Sent

Junk

Trash

Deleted Messages

Re: Manuscript Status CJF...

Message 9 of 1127

From Giurgiulescu Liviu
To Babak Pakbin
Date Wed 20:13

Dear author,

We will published in special issue at the end of the year. I'll come back with review result.

Best regards,

Liviu Giurgiulescu

Pe 6 sept. 2020, la 22:53, Babak Pakbin <b.pakbin@ut.ac.ir> a scris:

Dear Editor-in-Chief, Carpathian Journal of Food Science and Technology

Hope you are fine.

We have submitted our manuscript to your journal entitled "Anticancer effect of Probiotic *Saccharomyces boulardii* supernatant on human caco-2 cells; an in vitro study" with the conversation number CJFST80May2020.



CARPATHIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

journal homepage: http://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/index.html

1 Anticancer effect of Probiotic *Saccharomyces boulardii* supernatant on human 2 caco-2 cells; an in vitro study

3 Samaneh Allahyari¹, Shaghayegh Pishkhan Dibazar², Babak Pakbin³, Razzagh Mahmoudi^{4*},
4 Alireza Farasat⁵, Amir Peymani⁴, Peyman Ghajarbeygi⁶ and Nematollah Gheibi⁵

5 ¹Department of Food Hygiene and Safety, School of Health, Qazvin University of Medical sciences, Qazvin, Iran.

6 ²Department of Immunology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

7 ³Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Quality of Control, University of Tehran, Tehran, Iran.

8 ⁴Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

9 ⁵Department of Medical Biotechnology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

10 ⁶Health Products Safety Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

11 *Corresponding author: r.mahmodi@yahoo.com

12 Article history:
Complete by editor

Keywords:

Probiotic *Saccharomyces**boulardii*;

Caco-2 cell;


Apoptosis;

Survivin gene expression;

Anticancer treatment.

ABSTRACT

Colon cancer is an important worldwide cause of death in human which is treated commonly by chemotherapy, radiotherapy and surgery methods with different side effects. Natural treatment such as microbial cell wall extract is suggested to be used as an effective alternative of chemical drugs for treatment of colon cancers without any side effect. *Saccharomyces boulardii* is used in probiotic foods and supplement capsules in viable and yeast cell wall extract forms. At the present study, we in vitro investigate the anticancer properties of *S. boulardii* supernatant (SBS) on colon cancer cells.

A decorative header featuring several white and light blue diamond shapes of varying sizes, some with shadows, arranged in a cluster at the top of the slide.

با سپاس فراوان از تمامی
عزیزان حاضر در جلسه

